

研究課題別評価

1. 研究課題名 :免疫の調節機構、その制御と新しい治療コンセプト

2. 研究者 :清野 研一郎

グループメンバー :黒岩 憲二(研究期間 H.13.4.1. ~ H15.9.30.)

姜 暁峰 (研究期間 H12.11.15. ~ H.14.3.31.)

3. 研究の狙い :

免疫寛容は、臓器移植、自己免疫疾患、アレルギー等の病態及び治療を考える上で非常に重要な概念であり、高齢化に伴う諸問題とも関連が深い。しかし、免疫寛容を司る詳細な分子機構については未だ明らかになっていない点が多く、これが臨床応用に足る新技術の開発を阻んでいる。我々は移植モデルを用いた実験を通じ、新しいリンパ球 NKT 細胞が免疫調節細胞として極めて重要な働きを担っている可能性を見出した。この知見を発展させ、NKT 細胞機能を分子レベルで明らかにしていくことを中心に据え、移植モデルを用いた免疫寛容の分子機構に関する研究を行っていく。さらに、NKT 細胞は他の免疫反応、例えば抗腫瘍免疫などにも重要な役割を果たしていることが示されており、これらにおける NKT 細胞の機能解析もあわせて行い、‘NKT 細胞生物学’を深めていく。その過程で同細胞を適切に制御する方法を探索し、その結果を種々の免疫疾患に対する新規治療法の開発へ繋げて行くことを目指し、研究を推進していく。

4. 研究結果 :

マウス心移植モデルを用い、短期間の副刺激阻害で誘導される移植免疫寛容誘導は、NKT 細胞を欠くNKTKO マウスでは誘導されにくく、これを示し、この反応には IL-4 に比し IFN- γ が重要であることを明らかにした。本寛容誘導においてアロ反応性 T 細胞に起こるアポトーシスは、野生型マウス、NKTKO マウス間で特に大きな差はなく、それ以外のメカニズムが考えられた。またその後、他のプロトコル(抗 CD40L 抗体の投与)による寛容誘導にもNKT 細胞の存在が重要であることを明らかにした。

NKT 細胞とconventional T 細胞との遺伝子発現の比較をcDNA サブトラクションにて行い、NKT 細胞に多く発現している遺伝子を解析した。その中で、ケモカインレセプターの一つ CXCR6 が NKT 細胞に特に高く発現していることを発見し、そのリガンドCXCL16 の NKT 細胞に及ぼす作用の解析を行った。その結果、可溶性 CXCL16 は NKT 細胞の遊走ならびに接着を引き起こすことが明らかにされた。引き続き、CXCL16 の機能を阻害する抗 CXCL16 抗体の投与により、CXCL16/CXCR6 の移植免疫反応における役割を検討した。MHC 完全不一致の心移植のアロ心移植の系で、抗 CXCL16 抗体の投与は移植心の生着を延長させなかった。一方、副刺激阻害によって寛容誘導されたマウスにこの抗体を投与すると、80%のマウスで拒絶が誘導された。この拒絶の進行程度は、NKTKO マウスで見られたものとほぼ同程度であり、同抗体は NKT 細胞の機能を阻害したことにより寛容の維持が阻害されたものと考えられた。

上記のような結果から、NKT 細胞の特異的活性化物質 - GalCer や OCH といった糖脂質を用いて免疫系の制御を行うというコンセプトが考えられる。我々は、これらの糖脂質を様々なプロトコルでマウスに投与し、その後アロの移植を行うという実験を行った。しかし、残念ながら完全アロの免疫反応を抑制するような効果はこれら糖脂質の単独投与では見られなかった。これは移

植免疫反応が、他の実験モデルで見られるものに比して強いということが原因の一つと考えられた。

NKT細胞は癌免疫にも大いに関わることが示されている。これまでの基礎研究の結果を受けて、米国、オーストラリア及び日本においてNKT細胞の特異的活性化物質 - GalCerを用いた癌治療の臨床試験が開始されている。我々は担癌状態個体におけるNKT細胞の機能を知ることは今後の臨床応用を進める上で重要であると考え、ヒトならびにマウスの検体を用い研究を行った。まず、消化器系癌患者から得られた末梢血リンパ球中のNKT細胞の - GalCerに対する増殖反応が、健康人に比し有意に低下していることを見出した。培養系への様々なサイトカインの添加により同反応の回復を試みたところ、試した中ではG-CSFのみが有効であり、実際NKT細胞上にG-CSFレセプターの発現を認めた。次にマウスに癌細胞を接種し担癌状態にした後のNKT細胞機能を評価した。するとヒトで見られたものと同様に、NKT細胞の機能低下が認められた。同マウスでは脾臓中にMac - 1⁺Gr - 1⁺の細胞が増加しており、これがNKT細胞機能を減弱させていることをつきとめた。さらに同細胞群の産生する活性酸素の役割を知るべく、iNOS阻害剤を作用させるとNKT細胞機能は回復した。即ち、担癌状態では、Mac - 1⁺Gr - 1⁺細胞の産生する活性酸素がNKT細胞機能を阻害しており、免疫能低下の一因となっていることが示された。

5.自己評価：

実験的移植免疫寛容におけるNKT細胞の重要性を明らかにすることを出発点に研究を推進して来た。その分子機構の解明は予想以上に困難であったが、NKT細胞に特徴的に高発現する分子としてケモカインレセプターの一つであるCXCR6を同定し、最終的にはそのリガンドとの相互作用(CXCL16/CXCR6)が、移植免疫寛容誘導の際に働く分子機構として重要であることを明らかにし(論文投稿中)、当初の狙い通りの進展を果たせた。一方、NKT細胞特異的活性化物質 - GalCerの投与による免疫反応の制御を試みてきたが、残念ながら我々がモデルとして用いたアロの移植では有意な結果は得られなかった。しかし同時期に、他の疾患(1型糖尿病や実験的アレルギー性脳脊髄炎など)においては - GalCerによるNKT細胞の活性化で病態の改善が可能であることが示されており、NKT細胞をターゲットにするという治療コンセプト自体は間違っていないと考えている。また、ヒトおよびマウスの担癌状態におけるNKT細胞の機能不全の存在を示せたことは、予想外の展開ではあったが、癌と免疫の関係を説明する上で重要な知見である。その原因と改善の可能性をマウスで示すことができた。これらの結果は、現在計画されているヒト癌に対するNKT細胞療法の進展上大いに関与する可能性がある。

今回の研究プロジェクトにおいて、主に移植、癌をモデルとしてNKT細胞学の推進に寄与できた。その成果として、論文発表のほか、日本免疫学会学術集会シンポジウムにおいてNKT細胞と免疫制御に関する発表を3年連続して担当した。今後は、癌以外のヒト疾患への応用の可能性の探索、更なるメカニズム解析などのほかに、免疫系の他の制御システムとの関連性を明らかにしていくことが重要である。

6.研究総括の見解：

千葉大グループによって世界に先駆けて新しく見いだされたNKT細胞の免疫調節・生体防御における役割解明を追求して、着実な成果をあげている。移植やがん問題を含めて、大きな広がり呈示しつつある新領域開拓である。理研免疫アレルギーセンターに移籍しての今後を期待したい。

7. 主な論文等：

1. Harada M, Seino K, Wakao H, Sakata S, Ishizuka Y, Ito T, Kojo S, Nakayama T, Taniguchi M. Down-regulation of invariant V α 14 antigen receptor in NKT cells upon activation. *Int. Immunol.* In press
2. Koike J, Wakao H, Ishizuka Y, Sato T, Hamaoki M, Seino K, Koseki H, Nakayama T, and Taniguchi M. Bone marrow allograft rejection mediated by a novel murine NK receptor, NKG21. *J. Exp. Med.* In press
3. Taniguchi M, Seino K, Nakayama T. The NKT cell system: bridging innate and acquired immunity. *Nat. Immunol.* 4, 1164- 1165, 2003
4. Kobayashi S, Kaneko Y, Seino K, Yamada Y, Motohashi S, Koike J, Sugaya K, Kuriyama T, Asano S, Tsuda T, Wakao H, Harada M, Kojo S, Nakayama T, and Taniguchi M. Impaired IFN- γ production of V α 24 NKT cells in non-remitting sarcoidosis. *Int. Immunol.* In press.
5. Yanagisawa K, Seino K, Nozue M, Todoroki T, Fukao K. Impaired proliferative response of V α 24 NKT cells from cancer patients against alpha-galactosylceramide. *J. Immunol.* 168, 6494-6499, 2002.
6. Seino K, Setoguchi, Y., Ogino, T., Kayagaki, N., Akiba, H., Nakano, H., Taniguchi, H., Takada Y., Todoroki, T., Fukuchi, Y., Yagita, H., Okumura, K., and Fukao, K. Protection against Fas- and TNF receptor 1-mediated liver injury by blockade of FADD without loss of NF-kappa B activation. *Annals of Surgery* 234, 681 -688, 2001
7. Seino, K., Fukao, K., Muramoto, K., Yanagisawa, K., Takada, Y., Kakuta, S., Iwakura, Y., Luc Van Kaer, Takeda, K., Nakayama, T., Taniguchi, M., Bashuda, H., Yagita, H., and Okumura, K. Requirement of natural killer T (NKT) cells in the induction of allograft tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ,98, 2577-2581 , 2001
8. Seino, K., Yanagisawa, K., Taniguchi, H., Takada, Y., Yuzawa, K., Otsuka, M., and Fukao, K. The effect of alpha-galactosylceramide upon allogeneic rejection. *Transplant. Proc.* 33, 437-438, 2001

総説

1. 清野研一郎、谷口克. NKT 細胞による免疫制御. *実験医学* 21、2179-2183、2003
2. 清野研一郎、谷口克. iNKT 細胞による自然免疫および獲得免疫応答の制御. *Annual Review 免疫* 2004、126-134、2003
3. Seino K. Immune regulation mediated by NKT cells. *Recent Res. Devel. Immunol.* 4,127-133, 2002
4. 清野研一郎. 免疫制御機構における NKT 細胞の役割. *炎症と免疫* 9,531-535,2001
5. 清野研一郎. 副刺激の阻害による寛容誘導. *医学のあゆみ* 196,949-952,2001

学会発表 18 件(うち英語発表 11 件)

招待講演 5 件(うち英語発表 1 件)

研究課題別評価